1st 8th INSCIC
Yala Rajabhat University
21-22 Feb 2023

PROCEEDING
รายงานสืบเนื่องจาก

การประชุมวิชาการระดับชาติ ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 8 และ การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 1

The 8th National Conference on Science and Technology 2023 (NSCIC2023) and
The 1st International Conference on Science and Technology 2023 (INSCIC2023)

วันที่ 21-22 กุมภาพันธ์ 2566
คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

รายงานสืบเนื่องจากงานประชุมวิชาการระดับชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 8 และ
งานประชุมวิชาการระดับนานาชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 1
The 8th National Conference on Science and Technology 2023: NSCIC2023 and
the 1st International Conference on Science and Technology 2023: INSCIC2023

จัดพิมพ์โดย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
พิมพ์ครั้งที่ 1
ปีที่พิมพ์ 2566

เลขมาตรฐานสากลประจำหนังสืออิเล็กทรอนิกส์ 978-616-8297-28-5
ข้อมูลทางบรรณานุกรมของหอสมุดแห่งชาติ
National Library of Thailand Cataloging in Publication data

ISBN (e-book) 978-616-8297-28-5

สงวนลิขสิทธิ์โดย
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
133 ถนนเทศบาล 3 ตำบลสะเตง อำเภอเมืองยะลา
จังหวัดยะลา 95000 โทรศัพท์ 073 299 699

จัดพิมพ์แบบ อิเล็กทรอนิกส์

แผ่นกรองสมุนไพรสำหรับหน้ากากอนามัยป้องกันจุลินทรีย์
Herbal Filters for Anti-microbial Mask

ฮัสวานี สามา[1] แวปัทมา แวกาเดร์[1] ซูไบดีะ หะยีวาเงาะ[1]*
Haswanee Sama[1], Waepatthama Waekade[1] and Zubaidah Hajiwangoh[1]*

[1]หลักสูตรจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา 133 ถ.เทศบาล 3 ต.สะเตง อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000
[1]Department of Microbiolgy, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, 133 Thesaban 3, Sateng, Muang, Yala 95000, Thailand
*Corresponding author, e-mail: zubaidah.h@yru.ac.th

บทคัดย่อ

จุลินทรีย์ในอากาศเป็นสาเหตุสำคัญของการเจ็บป่วยในระบบทางเดินหายใจ การป้องกันส่วนบุคคลที่ทำได้ง่ายและมีประสิทธิภาพ คือ การสวมหน้ากากอนามัย ซึ่งการเสริมประสิทธิภาพในการป้องกันและยับยั้งจุลินทรีย์ สามารถทำได้โดยอาศัยสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตแผ่นกรองสมุนไพรสำหรับหน้ากากอนามัยเพื่อป้องกันจุลินทรีย์ในอากาศ โดยนำสารสกัดสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ ใบละมุด (*Manilkara zapota*) ใบสาบเสือ (*Chromalaena odorata* L.) ใบพลูคาว (*Houttuynia cordata* Thunb.) เปลือกลำต้นมะยม (*Phyllanthus acidus*) และเปลือกมะกรูด (*Citrus hystrix*) มาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และคัดเลือกสมุนไพรที่ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีนำไปผลิตแผ่นกรองสำหรับหน้ากากอนามัย ผลการศึกษาพบว่า สมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ที่สุด คือ สารสกัดจากใบละมุด มีค่า MIC เท่ากับ 1.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดจากเปลือกมะกรูด มีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำสารสกัดทั้งสองชนิดไปผลิตแผ่นกรองสำหรับหน้ากากอนามัย พบว่า สามารถสกัดทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการป้องกันและยับยั้งเชื้อได้ดี เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าค่า MIC จำนวน 4 เท่า คือ สารสกัดจากใบละมุดที่ความเข้มข้น 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากเปลือกมะกรูดที่ความเข้มข้น 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้น แผ่นกรองทั้ง 2 ชนิด จึงมีศักยภาพและควรนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถใช้ป้องกันจุลินทรีย์ในอากาศร่วมกับหน้ากากอนามัยต่อไป

คำสำคัญ : แผ่นกรองสมุนไพร จุลินทรีย์ในอากาศ หน้ากากอนามัย

Abstract

Airborne microbes are the major causative agent of respiratory disease. Wearing surgical mask is one of simple and effective strategies for personal protection. Herbs, antimicrobial agents can be increased the efficiency of protective mask. This research aims to produce herbal filters combined with surgical mask for preventing airborne microorganisms. 3 types of herbal extracts: Sapodilla (*Manilkara zapota*) leaves, Siam weed (*Chromalaena odorata* L.) leaves, Plu Kaow (*Houttuynia cordata* Thunb.) leaves, Star Gooseberry (*Phyllanthus acidus*) bark and kaffir lime (*Citrus hystrix*) peel were tested for antimicrobial activity. The effective antimicrobial herbs were selected to make filters for surgical masks. The results showed that the herbal extract exhibited the highest activity was extracted from sapodilla leaves with MIC of 1.95 mg/ml, followed by kaffir lime peel extract with MIC of 3.90 mg/ml. Both extracts were used to produce filters for surgical mask. Filter contained sapodilla leaf extract and kaffir lime peel extract were produced and tested protective and antimicrobial activity. This results revealed that both extracted filter were effective to prevent and inhibit bacteria when using herbal extracts at concentrations as 4 times of the MIC, 7.81 mg/ml and 15.62 mg/ml of sapodilla leaf extract and kaffir lime peel extract, respectively. Therefore, the filter contained sapodilla leaf extract and kaffir lime peel extract have antimicrobial activity. These filters could develop for using with surgical mask for airborne microorganism prevention.

Keywords : herbal filter, airborne-microorganism, masks

บทนำ

จุลินทรีย์ที่แพร่กระจายในอากาศอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของคนเราได้ โดยทำให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ รวมถึงอาการหอบ (Knibbs and Morawska, 2012) หรือปอดอักเสบจากภูมิแพ้ (Lacey and Dutkiewicz, 1994) จุลินทรีย์ในอากาศสามารถอยู่ในรูปของละอองฝอยขนาดเล็กหรือเรียกว่า droplet nuclei ซึ่งเป็นละอองฝอยขนาด 2-5 ไมครอน จุลินทรีย์เหล่านี้ปะปนอยู่ในหยดน้ำลาย สารเมือกต่างๆ ที่ออกมาจากร่างกายมนุษย์จากการไอ จาม และเนื่องจากมีขนาดเล็กจึงลอยอยู่ในอากาศได้นาน อีกทั้งยังมีเมือกห่อหุ้มซึ่งเปรียบเสมือนเกราะป้องกันจุลินทรีย์ที่อยู่ภายใน (Krasuayklang and Nathapindhu 2020) และอาจมีแหล่งมาจากสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น ฝุ่นและดิน ซึ่งถูกลดพัดพาและเกิดการฟุ้งกระจายในอากาศ จุลินทรีย์ที่พบในอากาศมีหลายชนิด เช่น *Bacillus* spp., *Diptheroid* spp., *Staphylococcus* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., และ *Fusarium* spp., (Uthungsung and Nathapindhu, 2018) โดยแบคทีเรียที่พบได้บ่อยมากในอากาศคือ *Bacillus* spp. (Uthungsung and Nathapindhu, 2018; Hajiwangoh *et al*., 2017) จุลินทรีย์หลายๆ ชนิดเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ สามารถติดต่อจากการไอหรือจาม ซึ่งการไอหรือจามในแต่ละครั้ง สามารถกระจายเชื้อได้ไกลประมาณ 15 ฟุต จึงก่อให้เกิดการติดเชื้อกับผู้ที่อยู่บริเวณใกล้เคียงได้ง่าย (Ruancharoen *et al*., 2022) และทำให้มีโอกาสแพร่กระจายเชื้ออย่างรวดเร็ว หากไม่มีการป้องกันอย่างถูกวิธี ซึ่งการป้องกันการติดต่อและแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อทางเดินหายใจที่ง่ายและมีประสิทธิภาพ คือ การสวมใส่หน้ากากอนามัย ซึ่งเป็นอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล โดยเฉพาะในสถานการณ์ปัจจุบันที่ยังคงมีการแพร่ระบาดของโรคโควิด 19 รวมถึงโรคไข้หวัดใหญ่ซึ่งมีการแพร่ระบาดทุกปี ดังนั้นการสวมหน้ากากอนามัยที่มีคุณสมบัติทั้งในการป้องกันการแพร่เชื้อจากผู้ป่วยหรือ ผู้ติดเชื้อและยังสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์เข้าไปในร่างกายของผู้ส่วนใส่ได้อีกด้วย โดยงานวิจัยขององค์การอนามัยโลก พบว่าหน้ากากอนามัยสามารถลดการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ในอากาศได้ถึงร้อยละ 80 (Sukonket *et al*., 2019) ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะเพิ่มประสิทธิภาพของหน้ากากอนามัย โดยเฉพาะหน้ากากอนามัยแบบผ้าที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับหน้ากากอนามัยประเภทอื่นๆ คือ สามารถป้องกันฝุ่นละออง ป้องกันการแพร่กระจายของน้ำลายจากการไอ จาม แต่ไม่สามารถกรองเชื้อโรคที่มีขนาดเล็กมากๆ ได้ เป็นหน้ากากอนามัยที่แนะนำให้ใส่แผ่นกรองเพิ่มเข้าไปร่วมกับหน้ากากผ้า (Intra, 2021) โดยแผ่นกรองหน้ากากอนามัย เป็นวัสดุที่สามารถช่วยในการกรองฝุ่นละอองต่างๆ ในกรองอากาศเมื่อใช้ร่วมกับหน้ากากอนามัย นอกจากนี้ ยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของแผ่นกรองในการป้องกันและยับยั้งจุลินทรีย์ โดยการนำแผ่นกรองแช่หรือผสมสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ มีรายงานวิจัยพบว่า เมื่อนำแผ่นกรองจากผ้าสักหลาดชุบสารสกัดสมุนไพรหลายๆ ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน ฟ้าทะลายโจร ย่านาง มะระขี้นก พลูคาว เสลดพังพอนตัวเมีย โดยใช้ร่วมกับหน้ากากอนามัยแบบผ้าสามารถป้องจุลินทรีย์ในอากาศได้ร้อยละ 100 (Ruancharoen *et al*., 2022) ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้นำสมุนไพรที่มีรายงานการวิจัยว่ามีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ใบละมุด ใบสาบเสือ พลูคาว เปลือกลำต้นมะยม และเปลือกมะกรูด (Murnisyazwani and Rabeta, 2019; Osman *et al*., 2011; Jaisai and Lamlertthon, 2007; คอสียาห์ และคณะ, 2562) มาเพิ่มประสิทธิภาพของแผ่นกรอง ทั้งนี้เพื่อทำให้หน้ากากอนามัยมีประสิทธิภาพในการป้องกันเชื้อได้มากขึ้นและทำให้ผู้สวมใส่มีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาฤทธิ์สารสกัดสมุนไพรในการยับยั้ง *Bacillus* sp.
2. ศึกษาประสิทธิภาพของแผ่นกรองในการยับยั้งและป้องกัน *Bacillus* sp.

วิธีดำเนินการวิจัย

การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์

เก็บตัวอย่างเชื้อจากอากาศ โดยวางอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) ที่เปิดฝาไว้ ภายในอาคาร เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำอาหารไปบ่ม ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง (เพื่อให้เชื้อมีการสร้างเอนโดสปอร์) นำโคโลนีที่เจริญไปศึกษาลักษณะเบื้องต้น โดยการย้อมแกรมและศึกษาสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นนำไปทดสอบการ

สร้างเอนไซม์คะตาเลส (ดัดแปลงจาก Ruancharoen *et al*., 2022) โดยลักษณะของเชื้อ *Bacillus* spp. คือ ติดสีแกรมบวก รูปท่อน สร้างเอนโดสปอร์ และให้ผลคะตาเลสเป็นบวก

เตรียมสารสกัดสมุนไพร

นำสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ ใบสาบเสือ เปลือกมะกรูด ใบพลูคาว เปลือกลำต้นมะยม และใบละมุด ล้างทำความสะอาดและตากแดดนาน 2-3 วัน หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ หรือปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าให้เป็นผงละเอียด แล้วนำสมุนไพรน้ำหนัก 250 กรัม แช่ใน 95% เอทานอล ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดเวลาให้ทำการกรองด้วยผ้าขาวบาง นำของเหลวที่ได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary Evaporator นำสารสกัดสมุนไพรไปทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อ โดยละลายสารสกัดใน 50% Dimethyl sulfoxide (DMSO) แล้ว streak บนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บสารในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการทดสอบต่อไป (ดัดแปลงจาก Ruancharoen *et al*., 2022)

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus* sp. ของสารสกัดจากสมุนไพรด้วยวิธี Agar disc diffusion

การทดสอบการยับยั้งเชื้อ ตามวิธีวิธีมาตรฐาน CLSI (2009) โดยเพาะเชื้อ *Bacillus* sp. บนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง นำโคโลนีของเชื้อไปปรับความขุ่นใน 0.85% NaCl ให้ได้ 0.5 McFarland standard ใช้ไม้พันสำลีจุ่มเชื้อที่เตรียมไว้ เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร Mueller-Hinton agar (MHA) รอให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นวางแผ่น paper disc ที่หยดสารสกัดสกัดสมุนไพรปริมาณ 20 ไมโครลิตร (มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลการทดลองโดย วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ (vernier calipers) ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ สำหรับชุดควบคุมผลลบ ใช้ 50% DMSO และชุดควบคุมผลบวก ใช้ยาปฏิชีวนะ Cefoxitin และ Clindamycin (ดัดแปลงจาก Rangsipanuratn *et al*., 2016)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration; MIC) และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ทำลายแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration; MBC)

ทดสอบการหาค่า MIC ของสารสกัด ตามวิธีวิธีมาตรฐาน CLSI (2009) โดยทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 125-0.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 96 well-microtiter plate โดยดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth (MHB) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ในหลุมที่ 1-10 แล้วดูดสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่หลุมที่ 1 และเจือจางแบบ Two-fold serial dilution จนถึงหลุมที่ 10 ดูดเชื้อทดสอบที่มีจำนวน $5x10^5$ CFU/ml ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ในแต่ละหลุม ส่วนหลุมที่ 11 เป็นชุดควบคุมผลลบ ใส่อาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียว และหลุมที่ 12 เป็นชุดควบคุมผลบวก ใส่เชื้อ *Bacillus* sp. และอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18- 24 ชั่วโมง อ่านค่า MIC โดยสังเกตความขุ่นในหลุมทดสอบ ถ้าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (ผลบวก) จะไม่เกิดความขุ่น แต่ถ้าสารสกัดไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (ผลลบ) เชื้อจะสามารถเจริญเติบโตทำให้เกิดความขุ่น ทำการทดสอบสารสกัดละ 3 ซ้ำ

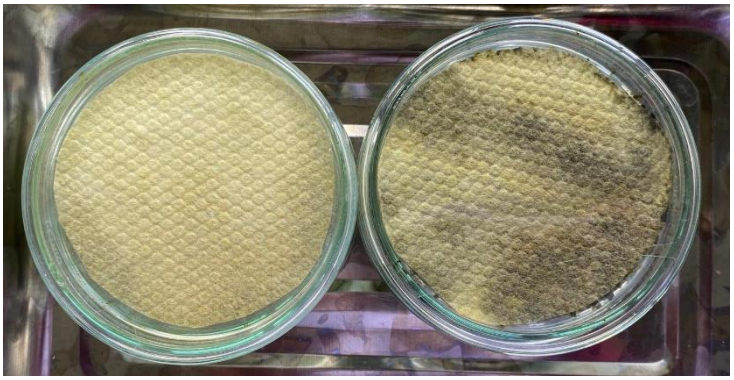
สำหรับการหาค่า MBC ทำโดยการใช้ลูปแตะเชื้อจากหลุมทดสอบที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ (ใส) ทุกหลุม streak ลงบนอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง โดยค่า MBC คือ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ คือ ไม่มีโคโลนีของเชื้อบนอาหาร หรือมีไม่เกินจำนวน 5 โคโลนี (ดัดแปลงจาก Rangsipanuratn *et al*., 2016)

การทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นกรองสมุนไพรในการป้องกันและยับยั้งจุลินทรีย์ในอากาศ

นำแผ่นกรองหน้ากากอนามัย ตัดเป็นรูปวงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร แล้วชุบสารสกัด (ภาพที่ 1) ที่ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) และความเข้มข้นที่สูงกว่าค่า MIC จำนวน 2 เท่า นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันหรือจนกว่าแผ่นกรองจะแห้ง คีบแผ่นกรองด้วยปากคีบที่ปลอดเชื้อ คีบไว้เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ NA ประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วใช้ขวดพลาสติกที่ตัดก้นขวด ครอบจานอาหารเลี้ยง NA จากนั้นนำ *Bacillus* sp. ที่ปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland standard ใส่ลงในขวดสเปรย์ ฉีดพ่นเชื้อลงบนแผ่นกรองที่ชุบสารสกัดสมุนไพร โดยฉีดห่าง

จากแผ่นกรองประมาณ 30 เซนติเมตร เพื่อจำลองสถานการณ์ให้ใกล้เคียงกับการที่มีสารคัดหลั่งที่มีเชื้อโรคปนอยู่จากผู้ป่วยที่มีการไอหรือจาม

จากนั้นนำแผ่นกรองที่ผ่านการพ่นเชื้อแล้ววางบนอาหาร NA จานใหม่ และนำอาหาร NA ที่อยู่ใต้แผ่นกรอง ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาตรวจนับจำนวนโคโลนีบนแผ่นกรอง และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (ดัดแปลงจาก Ruancharoen *et al*., 2022)



ภาพที่ 1 แผ่นกรองสมุนไพร

ผลการวิจัย

การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์

ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Bacillus* sp. ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA มีโคโลนีที่มีลักษณะสีขาวขุ่น ขอบไม่เรียบ ผิวหน้าหยาบ ด้าน และติดสีแกรมบวก รูปร่างท่อน เรียงตัวแบบเดี่ยว หรือเป็นสาย และให้ผลคะตาเลสเป็นบวก

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของสารสกัดสมุนไพร

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus* sp. ของสารสกัดทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี Agar diffusion พบว่าสารสกัดทุกชนิดสามารถยับยั้งเชื้อได้ (ตารางที่ 1 ภาพที่ 2) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสระหว่าง 8.60-16.69 มิลลิเมตร โดยสารสกัดจากใบสาบเสือ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากใบละมุด โดยเชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะ Cefoxitin (30 µg) และไวปานกลางต่อยา Clindamycin (2 ug)

เมื่อนำสารสกัดทั้ง 5 ชนิด ไปทดสอบหาค่า MIC และ MBC พบว่า สารสกัดมีค่า MIC อยู่ในช่วง 1.95-31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดจากใบละมุด มีค่า MIC ต่ำสุด คือ 1.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดจากเปลือกมะกรูด มีค่า MIC 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนค่า MBC ของสารสกัดทุกชนิดมากกว่า 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ยาปฏิชีวนะ Clindamycin มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.97 และ 7.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

การทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นกรองสมุนไพรในการป้องกันและยับยั้งจุลินทรีย์ในอากาศ

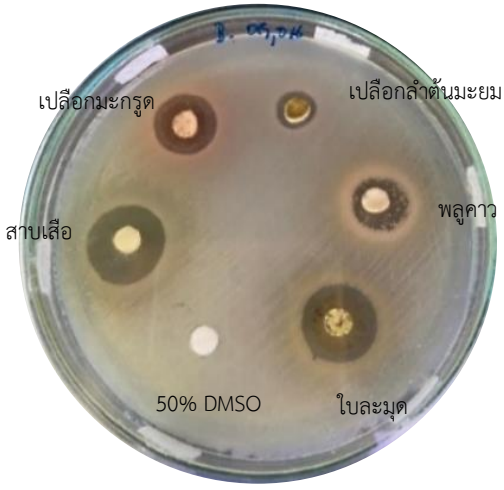
นำสารสกัดสมุนไพรที่มีค่า MIC ต่ำสุด 2 ชนิด คือ สารสกัดจากใบละมุดและสารสกัดจากเปลือกมะกรูด ไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันและยับยั้งจุลินทรีย์ในอากาศ โดยสารสกัดจากใบละมุดทดสอบที่ความเข้มข้น 1.95 และ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากเปลือกมะกรูดที่ความเข้มข้น 3.90 และ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (พิจารณาเลือกความเข้มข้นตามค่า MIC และความเข้มข้นที่สูงกว่าค่า MIC จำนวน 4 เท่า) ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดจากเปลือกมะกรูดที่ความเข้มข้น 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถป้องกันเชื้อได้ดีที่สุด มีจำนวนโคโลนีบนอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อเฉลี่ย 1±1.41 โคโลนี และมีประสิทธิภาพป้องกันเชื้อได้ดี โดยไม่มีโคโลนีเจริญบนแผ่นกรอง ในขณะที่สารสกัดจากใบละมุดที่ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถป้องกันเชื้อได้ดีเช่นเดียวกัน โดยมีจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉลี่ย 1.5±0.70 โคโลนี และ

มีประสิทธิภาพป้องกันเชื้อได้ดีเช่นกัน โดยไม่มีโคโลนีเจริญบนแผ่นกรอง สำหรับชุดควบคุม ซึ่งเป็นแผ่นกรองที่ชุบ 50% DMSO และแผ่นกรองเปล่า ไม่สามารถป้องกันและยับยั้งเชื้อได้ (ตารางที่ 2 ภาพที่ 3 และภาพที่ 4)

ตารางที่ 1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus* sp. ของสารสกัดสมุนไพรและยาต้านจุลินทรีย์

ชนิดสมุนไพร/ยาปฏิชีวนะ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (mm±SD) และความไวต่อยาปฏิชีวนะ	ค่า MIC/MBC ของสารสกัดสมุนไพร		ค่า MIC/MBC ของยาปฏิชีวนะ	
		ค่า MIC (mg/ml)	ค่า MBC (mg/ml)	ค่า MIC (ug/ml)	ค่า MBC (ug/ml)
ใบละมุด	15.96 ± 0.01	1.95	>125	-	-
ใบพลูคาว	11.09 ± 0.10	31.25	>125	-	-
ใบสาบเสือ	16.69 ± 0.81	7.81	>125	-	-
เปลือกลำต้นมะยม	8.60 ± 0.18	125	>125	-	-
เปลือกมะกรูด	14.70 ± 0.25	3.90	>125	-	-
Cefoxitin (30 ug)	9.82 ± 2.22 (R)	-	-	-	-
Clindamycin (2 ug)	22.79 ± 0.14 (I)	-	-	-	-
50% DMSO	NI	-	-	-	-
Clindamycin (ชนิดผง)	-	-	-	0.97	7.85

หมายเหตุ R = Resistant, I = Intermediate susceptibility, NI = No inhibition, - = Non-analysis



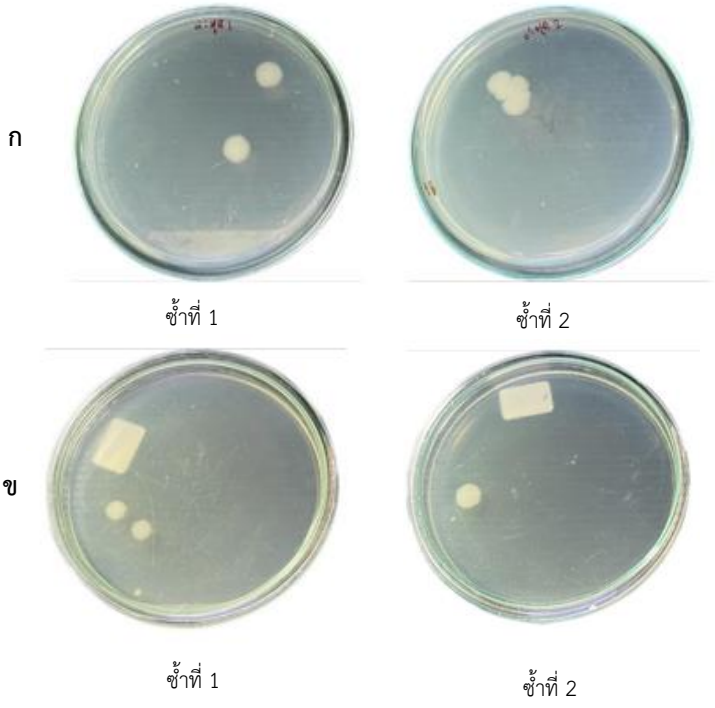
ภาพที่ 2 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Bacillus* sp. ของสารสกัดสมุนไพร

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการป้องกันและการยับยั้งเชื้อของแผ่นกรองสมุนไพร

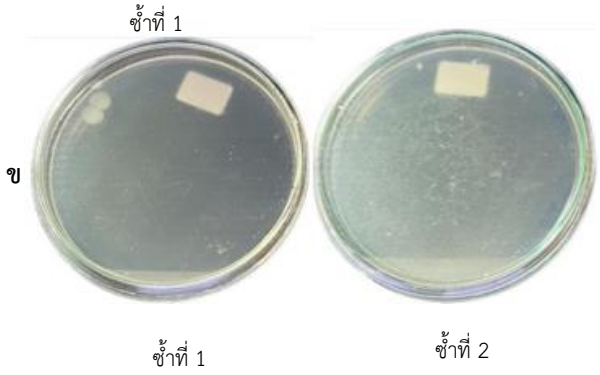
สารสกัดสมุนไพร/ชุดควบคุม	ความเข้มของสารสกัดสมุนไพร (mg/ml)	จำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (การป้องกันเชื้อ)	จำนวนโคโลนีบนแผ่นกรอง (การยับยั้งเชื้อ)
ใบละมุด	1.95	2.5±0.70	โคโลนีจำนวนมากไม่สามารถนับได้
	7.81	1.5±0.70	ไม่มี

สารสกัดสมุนไพร/ชุดควบคุม	ความเข้นของสารสกัดสมุนไพร (mg/ml)	จำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (การป้องกันเชื้อ)	จำนวนโคโลนีบนแผ่นกรอง (การยับยั้งเชื้อ)
เปลือกมะกรูด	3.90	20.5±4.96	ไม่มี
	15.62	1±1.41	ไม่มี
50% DMSO	-	โคโลนีจำนวนมาก ไม่สามารถนับได้	โคโลนีจำนวนมาก ไม่สามารถนับได้
แผ่นกรองเปล่า	-	โคโลนีจำนวนมาก ไม่สามารถนับได้	โคโลนีจำนวนมาก ไม่สามารถนับได้

หมายเหตุ - = ไม่ได้ทดสอบ



ภาพที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันเชื้อจุลินทรีย์สารสกัดจากใบละมุด
(ก) สารสกัดจากใบละมุดที่ความเข้มข้น 1.95 mg/ml
(ข) สารสกัดจากใบละมุดที่ความเข้มข้น 7.81 mg/ml



ภาพที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดเปลือกมะกรูด
(ก) สารสกัดจากเปลือกมะกรูดที่ความเข้มข้น 3.90 mg/ml
(ข) สารสกัดจากเปลือกมะกรูดที่ความเข้มข้น 15.62 mg/ml

อภิปรายผล

สารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่นำมาทดสอบ ได้แก่ สารสกัดจากใบสาบเสือ เปลือกมะกรูด ใบพลูคาว เปลือกลำต้นมะยม และใบละมุด ซึ่งสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่มีรายงานการวิจัยพบว่า ให้สารสกัดที่ออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ (Silaket *et al*., 2021; คอสียาห์ และคณะ, 2562) ผลการทดสอบ พบว่า สามารถยับยั้ง *Bacillus* sp. ที่คัดแยกจากอากาศได้ เนื่องจาก *Bacillus* sp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถก่อให้เกิดโรคในอากาศได้ และยังมีรายงานการตรวจพบในอากาศปริมาณมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียชนิดอื่นๆ โดยพบในอากาศของโรงพยาบาลแผนกผู้ป่วยนอกสูงสุด คือ ร้อยละ 47.88 (279 CFU/m^3) (Uthungsung and Nathapindhu, 2018) เช่นเดียวกับงานวิจัยของจักรพงษ์ และคณะ (2557) ที่ตรวจพบ *Bacillus* sp. ปริมาณมากที่สุด ในอากาศของห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ และยังพบในอากาศของโรงพยาบาลชุมชนมากที่สุดเช่นกัน (Srithewin and Nathapindhu, 2012) โดยสารสกัดจากใบละมุดมีค่า MIC ต่ำสุด คือ 1.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดจากเปลือกมะกรูดมีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดจากใบสาบเสือที่มี clear zone กว้างที่สุด คือ 16.69 มิลลิเมตร ซึ่งมากกว่าสารสกัดจากใบละมุดและเปลือกมะกรูดเล็กน้อย (สารสกัดจากใบละมุดและเปลือกมะกรูดมี clear zone 15.95 และ 14.70 มิลลิเมตร ตามลำดับ) แต่มีค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ การทดสอบโดยวิธีการ disc diffusion เป็นวิธีการที่อาศัยหลักการการแพร่ของสารสกัดไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีการกระจาย (spread) เชื้อไว้ โดยขนาดของ clear zone นอกจากจะแปรผันตรงกันความสามารถในการยับยั้งเชื้อแล้ว ยังอาจขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของสารสกัดสมุนไพร ความสามารถในการละลายหรือซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ (ประสาทพร และคณะ, 2551) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สารสกัดจากใบสาบเสือมีขนาด clear zone ที่กว้างกว่าสารสกัดอีก 2 ชนิดเล็กน้อย นอกจากนี้ การทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion ยังไม่สามารถระบุความเข้มข้นที่แน่นอนในการยับยั้งเชื้อ ในขณะที่การทดสอบหาค่า MIC ให้ผลการทดสอบที่ชัดเจน และสามารถระบุความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้คัดเลือกสารสกัดสองชนิดที่มีค่า MIC ต่ำสุดและรองลงมา คือ สารสกัดจากใบละมุดและเปลือกมะกรูด เพื่อนำมาทำแผ่นกรองสมุนไพรป้องกันและยับยั้งจุลินทรีย์

Murnisyazwani and Rabeta (2019) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากผลของละมุด และพบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก รวมถึง *Bacillus subtilis* และนอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากเปลือกลำต้นละมุดด้วยเอทิลอะซิเตตสามารถยับยั้ง *B. subtilis*, *B. cereus* และ *Bacillus megaterium* ได้เช่นกัน โดยมีค่า MIC คือ 256 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ซึ่งเป็นค่า MIC ที่ต่ำกว่าผลการทดสอบในงานวิจัยนี้ ที่มีค่า MIC เท่ากับ 1.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งส่วนของพืชสมุนไพรและตัวทำละลายในการสกัดสารที่แตกต่างกัน จะมีผลต่อปริมาณของสารสกัดที่ออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ทั้งนี้ในสารสกัดจากผล เปลือกลำต้น และใบละมุด มีสารแทนนิน ฟลาโวนอยด์ เทอร์พีนอยด์ และไกลโคซิเดส (Murnisyazwani and Rabeta, 2019; Osman *et al*., 2011) โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้ มีคุณสมบัติต้านแบคทีเรีย

(Ouattara *et al*., 2011; Maiyo *et al*., 2010; Viji *et al*., 2010; Mandalari *et al*., 2007) จึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้สารสกัดจากละมุดสามารถยับยั้งเชื้อได้

สารสกัดที่นำมาทำแผ่นกรองป้องกันและยับยั้งจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งคือ สารสกัดจากเปลือกมะกรูด ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งให้ผลการทดสอบที่ใกล้เคียงกับผลการศึกษาของคอสียาห์ และคณะ (2562) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมะกรูดที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus* sp. มีค่า MIC เท่ากับ 1.95 mg/ml นอกจากนี้สารสกัดจากส่วนใบ เปลือก และผลของมะกรูดสามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Abirami *et al*., 2013) โดยมีรายงานการศึกษาพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากผลมะกรูดสามารถยับยั้ง *Bacillus* sp. ได้เช่นกัน (Jaisai and Lamlertthon, 2007) โดยในมะกรูดมีสารสำคัญหลายชนิดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ ได้แก่ สาร D-limonene, β-pinene (Tran *et al*., 2021) จากคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด เมื่อนำไปผลิตเป็นแผ่นกรองชุบสารสกัดสมุนไพร จึงทำให้สามารถป้องกันการซึมผ่านของเชื้อผ่านแผ่นกรองและสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อและการผลิตแผ่นกรองจากสารสกัดสมุนไพรเพื่อยับยั้ง *Bacillus* sp. จากสมุนไพรจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ใบสาบเสือ ใบละมุด เปลือกมะกรูด ใบพลูคาว และเปลือกลำต้นมะยม ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่า สารสกัดทุกชนิดสามารถยับยั้งเชื้อได้ โดยสารสกัดจากใบละมุด ให้ค่า MIC ต่ำสุด คือ 1.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา สารสกัดจากเปลือกมะกรูด ให้ค่า MIC ต่ำสุด คือ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงนำสารกัดทั้งสองชนิด ไปผลิตแผ่นกรองสมุนไพรเพื่อป้องกันจุลินทรีย์ในอากาศ โดยแผ่นกรองชุบสารสกัดจากใบละมุดที่ความเข้มข้น 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และแผ่นกรองชุบสารสกัดเปลือกมะกรูดที่ความเข้มข้น 15.62 สามารถป้องกันและยับยั้งเชื้อได้ดี ดังนั้น สารสกัดทั้งสองชนิดนี้จึงมีความน่าสนใจที่จะนำไปพัฒนาเป็นแผ่นกรองป้องกันจุลินทรีย์ในอากาศเพื่อใช้ร่วมกันหน้ากากอนามัย เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันเชื้อได้มากขึ้น โดยควรมีการศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรคในอากาศชนิดอื่นๆ เพิ่มเติม ความปลอดภัยในการใช้ รวมถึงศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์

เอกสารอ้างอิง

คอสียาห์ สะลี, อับดุลาห์ โดลาห์ ดาลี, นุรอัยนี หะยียูโซะ, ซูไบด๊ะ หะยีวาเงาะ, พูรกอนี สาและ และหัสลินดา บินมะแอ. (2562). ประสิทธิภาพของสารสกัดพืชสมุนไพรพื้นบ้านและผลิตภัณฑ์ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus* sp., *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. และ *Staphylococcus aureus*. ใน *การประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัย และงานสร้างสรรค์ระดับชาติ "งานวิจัย และงานสร้างสรรค์รับใช้สังคมประจำปี พ.ศ.2562*, 12 กันยายน 2562. สมุทรปราการ : มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรี.

จักรพงษ์ นิมานะ, ศิริลักษณ์ เจริญรัตน์ และวราลี บุญญพิทักษ์สกุล. (2557). การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข*, 42(2), 341-349.

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน์. (2551). การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ ใน *การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9*, 11-12 มิถุนายน 2551 (หน้า 91-101). ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Abirami, A., Nagarani, G. and Siddhuraju, P. (2013). Antimicrobial activity of crude extract of *Citrus Hystrix* and *Citrus maxima*. *IJPSR, 4*(1), 296-300.

Hajiwangoh, Z., Salaeh, P., Dalee, A,D., Sali, K. and Hayeeyusoh, N. (2017). Contamination of some Airborne Bacteria and Fungi in Personal Cars. *J Sci Technol MSU*, *37*(2), 238-244. (in Thai).

Intra, P. (2021). Filtration Efficiency of Surgical Masks, Fabric Masks and N95/KN95/FFP1/FFP2 Masks Available for Use during the COVID-19 Pandemic in Thailand. *Thai Science and Technology Journal*, *29*(5), 904-918. (in Thai).

Jaisai, N. and Lamlertthon, S. (2007). Inhibition effects of Kaffir lime's peel oil on *Bacillus cereus* in cooked rice. Naresuan University Journal, *15*(3), 195-203. (in Thai).

Knibbs, L.D. and Morawska, L. (2012). Traffic-related fine and ultrafine particle exposures of professional drivers andillness: an opportunity to better link exposure science and epidemiology to address an occupational hazard?. *Environment International*, 49,110-114.

Krasuayklang, S. and Nathapindhu, G. (2020). Type and quantity of microorganism in indoor air at fitness center in Udon Thani Municipality. Research and Development Health System Journal, *13*(2), 196-202. (in Thai).

Lacey, J. and Dutkiewicz, J. (1994). Bioaerosols and occupational lung disease. *J Aerosol Sci*, 4(25):1371–1404.

Mandalari, .G, Bennett, R.N., Bisignano, G., Trombetta, D., Saija, A., Faulds, C.B, Gasson, M.J and Narbad, (2007). A. Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. *J Appl Microbiol, 103*(6), 2056-2064.

Maiyo, Z.C., Ngure, R.M., Matasyoh, J.C. and Chepkorir, R. (2010). Phytochemical constituents and antimicrobial activity of leaf extracts of three Amaranthus plant species. *Afr J Biotech*, 9(2), 3178-3182.

Murnisyazwani, J. and Rabeta, M.S. (2019). Antioxidant and antimicrobial activity of sapodilla (*Manilkara zapota* L.) fresh, juice and bar. *Food Research, 3*(5), 400 – 406.

Osman, M.A., Abdul Aziz. M., Habib, M.R. and Karim, M.R. (2011). Antimicrobial Investigation on *Manilkara zapota* (L.) P. Royen. Int. *J. Drug Dev. and Res., 3*(1), 185-190.

Ouattara, L., Koudou, J., Zongo, C., Barro, N., Savadogo, A., Bassole, I.H.N., Ouattara, A.S. and Traore, A.S. (2011). Antioxidant and antibacterial activities of three species of Lannea from Burkina Faso. *Journal of Applied Sciences, 11*(1), 157-162. https://doi.org/10.3923/jas.2011.157.162

Rangsipanuratn, W., Kammarnjassadakul, P. and Janwithayanuchit, I. (2016). Antibacterial acitivities of ten Thai herbal extracts against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* ATCC 25922. HCU. journal, *19*(38), 35-48. (in Thai).

Ruancharoen, C., Tananchai, T., Kham-ai, M.,Viriyakhasem, N. and Punfa, W. (2022). The Product Development of Filters for Herbal Anti-Microbial Masks. *Thai Journal of Public Health and Health Sciences, 4*(1), 134-146. (in Thai).

Silaket, S., Pengproh, R. and Boonrung, S. (2021). Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Fermented Siam Weed (Chromolaena odorata) Herb and Application to Produce Cleaning Solution in Saiyorw Tourism Villages and Learning Center, Thalung Lek District, Buriram Province. *JCDLQ, 8*(1), 145-157. (in Thai).

Srithewin, S. and Nathapindhu, K. (2012). Ambient microbial contamination in different hospital scales. *KKU. Res. J. (GS), 12*(40), 92-101. (in Thai).

Sukonket, T., Naveevong, N. and Eakkawat, S. (2019). Production of Hygienic masks for anti-bacterial in respiratory system by Peppermint and Cassava leaves extract. *Journal of Science Innovation for Sustainable Development, 1*(1), 44-54. (in Thai).

Teerakulkittipong, N., Thipayarat, A., Sukpornsawan, P., Deepatana, A. and Chokchaitam, S. (2018). Novel and high–throughput antimicrobial susceptibility method based on clinical microscale testing and digital image processing protocols. (Research reports). Chonburi : Burapha University.

Tran, T.N., Ngo, T.C.Q., Tran, T.H., Bach, L.G., Tran, T.T. and Huynh, X.P. (2021). Comparison of volatile compounds and antibacterial activity of *Citrus aurantifolia*, *Citrus latifolia*, and *Citrus hystrix* shell essential oils by pilot extraction. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* **1092** 012076, doi:10.1088/1757-899X/1092/1/012076

Uthungsung, K. and Nathapindhu, G. (2018). Types and quantities of microorganisms in ambient air of outpatient departments, Sunpasitthiprasong hospital in Ubon Rattchathani. *Journal of the Office of DPC 7 Khon Kaen, 25*(2), 14-21. (in Thai).

Viji, M. and Murugesans, S. (2010). Phytochemical analysis and antibacterial activity of medicinal plant *Cardiospermum halicacabum* Linn. *Journal of Phytol,; 2*(1), 68-77.